

1 414 株铜绿假单胞菌临床分布与耐药性分析*

邹自英¹, 苟 丹^{2#}, 刘 媛¹, 朱 冰¹, 曾 平^{1△} (1. 成都军区总医院微生物免疫科, 成都 610083; 2. 四川省什邡市妇幼保健院检验科 618400)

【摘要】 目的 了解铜绿假单胞菌(PAE)感染的临床分布及耐药情况。**方法** 采用 VITEK2-compact 检测系统对分离菌株进行鉴定和药敏试验检测, 回顾性分析 PAE 菌株临床分布特点及耐药性。**结果** 共检出 1 414 株 PAE, 以痰液检出最多[1 126 株(79.63%)], 其次为伤口分泌物[88 株(6.22%)]。PAE 对头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素、阿米卡星、妥布霉素、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南的耐药率分别为 31.61%、22.98%、33.73%、14.07%、31.40%、31.61%、34.23%, 对氨苄西林、呋喃妥因、头孢替坦、头孢唑肟、氨苄西林/舒巴坦、复方磺胺甲噁唑均高度耐药, 耐药率大于 95.00%。2012 年妥布霉素、哌拉西林/他唑巴坦耐药率较 2011 年明显下降($P < 0.05$)。**结论** 氨基糖苷类、头孢他啶、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南可作为治疗 PAE 感染的经验用药。

【关键词】 铜绿假单胞菌; 临床分布; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.18.005 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)18-2508-02

Distribution and drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimens* ZOU Zi-ying¹, GOU Dan^{2#}, LIU Yuan¹, ZHU Bing¹, ZENG Ping^{1△} (1. Department of Microbiology and Immunology, PLA Chengdu Military Area Command General Hospital, Chengdu, Sichuan 610083, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Maternal and Child Health Hospital of Shifang, Shifang, Sichuan 618400, China)

【Abstract】 Objective To study the prevalence and drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* (PAE) strains. **Methods** Identification and drug sensitivity of PAE strains were detected by using VITEK 2-compact system. Clinical distribution and drug resistance were retrospectively analyzed. **Results** A total of 1 414 PAE strains were isolated, 1 126(79.63%) of which were isolated from sputum, and 88(6.22%) strains were isolated from wound specimens. Resistant rates of PAE strains to ceftazidime, cefepime, gentamicin, amikacin, tobramycin, piperacillin-tazobactam and imipenem were 31.61%, 22.98%, 33.73%, 14.07%, 31.40%, 31.61% and 34.23%. Resistant rates of PAE strains to ampicillin, nitrofurantoin, cefotetan, cefazolin, ampicillin-sulbactam and trimethoprim-sulfamethoxazole were over 95%. Resistant rates of PAE strains to tobramycin and piperacillin-tazobactam in 2012 were lower than those in 2011. **Conclusion** Aminoglycosides, ceftazidime, cefepime, piperacillin-tazobactam and imipenem could be the most sensitive antibiotics to treat PAE infection.

【Key words】 *Pseudomonas aeruginosa*; distribution; drug resistance

铜绿假单胞菌(PAE)属于条件致病菌,可引起呼吸系统、泌尿系统、伤口、血液系统等感染。本研究对 2011~2012 年共计 1 414 株 PAE 进行了临床分布及耐药性分析,旨在了解 PAE 耐药现状,为临床合理用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2011~2012 年成都军区总医院各科室送检的各种标本中分离的 PAE 菌株,标本类型包括痰液、伤口分泌物、尿液、血液等。分离自同一患者同一部位标本的菌株选择第 1 次分离菌株。

1.2 仪器与试剂 VITEK2-compact 全自动微生物分析仪、GN 鉴定卡和 AST-GN13 药敏卡、BactALERT360 血培养仪、革兰染色仪(法国生物梅里埃公司),血平板、麦康凯平板(郑州安图绿科生物工程有限公司)。PAE 标准菌株 ATCC27853 购

自卫生部临检中心。

1.3 方法 按《全国临床检验操作规程(第 3 版)》的要求对送检标本进行转种、分离、分纯,用 VITEK2-compact 全自动微生物分析仪、GN 鉴定卡和 AST-GN13 药敏卡对细菌进行鉴定及药敏检测。按照美国临床和实验室标准化协会 M100-S22 文件推荐的标准,以测得的最小抑菌浓度(MIC)进行药敏试验检测结果分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PAE 在各种标本中的分布 各种类型标本分离 PAE 构成比见表 1。

* 基金项目:四川省卫生厅科研课题资助项目(130318)。

作者简介:邹自英,女,主管技师,硕士,主要从事细菌耐药机制研究。 # 共同第一作者。

△ 通讯作者, E-mail: jzengping@163.com。

2.2 PAE 在各临床科室的分布 各临床科室 PAE 检出构成比见表 2。

表 1 1 414 株 PAE 在各种类型标本中的分布						
标本类型	2011 年		2012 年		合计	
	株数	构成比	株数	构成比	株数	构成比
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
痰液	428	79.70	698	79.60	1 126	79.63
伤口	21	3.91	67	7.64	88	6.22
尿液	13	2.42	33	3.76	46	3.25
全血	9	1.68	29	3.31	38	2.68
胆汁	9	1.68	8	0.91	17	1.20
胸腹水	7	1.30	1	0.14	8	0.57
引流液	6	1.11	15	1.71	21	1.48
灌洗液	5	0.93	10	1.14	15	1.06
脓液	5	0.93	1	0.14	6	0.42
咽拭	2	0.37	1	0.14	3	0.21
关节液	1	0.19	0	0.00	1	0.07
脑脊液	1	0.19	0	0.00	1	0.07
其他	30	5.59	14	1.51	44	3.14

表 2 1 414 株 PAE 临床科室分布						
科室分布	2011 年		2012 年		合计	
	株数	构成比	株数	构成比	株数	构成比
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
干部病房	112	20.90	210	23.90	322	22.80
呼吸内科	98	18.20	165	18.8	263	18.60
神经外科	80	14.90	80	9.12	160	11.30
普外科	43	8.01	29	3.31	72	5.09
感染呼吸科	41	7.64	63	7.18	104	7.36
神经内科	31	5.77	55	6.27	86	6.08
ICU 病房	28	5.21	125	14.30	153	10.80
门诊	17	3.17	9	1.03	26	1.83
消化科	15	2.79	15	1.71	30	2.12
烧伤整形科	13	2.42	15	1.71	28	1.98
肾内科	11	2.05	12	1.37	23	1.63
心内科	8	1.49	10	1.14	18	1.27
血液科	7	1.30	9	1.03	16	1.13
肿瘤科	5	0.93	15	1.71	20	1.41
泌尿外科	4	0.74	14	1.60	18	1.27
骨科	11	2.05	20	2.28	31	2.19
内分泌	4	0.74	16	1.83	20	1.41
其他	9	1.69	15	1.71	24	1.73

2.3 PAE 耐药性分析 1 414 株 PAE 对 A 类首选抗菌药物和亚胺培南的敏感率均大于 65.00%，对氨苄西林、呋喃妥因、头孢替坦、头孢唑啉、氨苄西林/舒巴坦、复方磺胺甲噁唑均高

度耐药，耐药率大于 95.00%，见表 3。

表 3 1 414 株 PAE 耐药率分析 (%)				
抗菌药物	2011 年 (n=537)	2012 年 (n=877)	P	两年 平均值
氨苄西林	100.00	100.00	—	100.00
呋喃妥因	100.00	99.66	1.000	99.79
头孢替坦	100.00	98.52	1.000	99.08
头孢唑啉	99.80	99.89	1.000	99.86
氨苄西林/舒巴坦	99.80	99.09	1.000	98.36
复方磺胺甲噁唑	98.51	93.73	0.719	95.69
头孢曲松	89.94	71.49	0.134	78.50
氨基曲南	41.15	45.27	0.666	43.70
庆大霉素	44.32	27.71	0.059	33.73
左氧氟沙星	44.32	37.29	0.437	39.96
环丙沙星	43.02	41.85	0.914	42.29
哌拉西林/他唑巴坦	32.96	18.47	0.036	23.97
头孢吡肟	26.62	20.75	0.386	22.98
妥布霉素	41.72	25.09	0.038	31.40
头孢他啶	33.15	30.67	0.803	31.61
亚胺培南	32.21	35.46	0.714	34.23
阿米卡星	14.15	14.03	1.000	14.07

注：—表示无数据；P 表示 2011、2012 年耐药率比较结果。

3 讨 论

PAE 在自然界中广泛存在,可定植在人体多个部位,属于条件致病菌,可引起下呼吸道、烧伤创面、泌尿道等严重感染。本研究结果显示,1 414 株 PAE 中以痰液检出最多,占 79.63%,比孙珊和张莉萍^[1]报道的 75.27%略高。痰液取材方便,患者易于接受,送检率相对较高。此外,PAE 是上呼吸道的定植菌群之一,易侵犯免疫力低下的患者。因此,加强对患者呼吸道的护理,并做好各种消毒工作,有利于预防 PAE 感染。PAE 的多糖荚膜可抵抗吞噬细胞的吞噬,并使其易黏附于囊性纤维化和慢性呼吸道疾病患者的呼吸道及肺泡表面,引发呼吸道感染^[2]。PAE 在各种分泌物中的检出率位居第二,因此及时清理创面并进行消毒保护,有利于预防创面 PAE 感染的发生。PAE 感染尿路及血流时,细菌极难清除,应引起高度重视。PAE 感染主要集中在干部病房、呼吸内科、神经外科等科室,多数患者年龄较大,合并多种基础疾病,免疫力低下,长期应用广谱抗菌药物,接受机械通气、气管切开等有创操作较多,导致 PAE 感染率较高。PAE 耐药主要有以下机制。(1)产生耐药基因:PAE 通过获得 A 类(PER、TEM、SHV、CTX-M、VEB、GES)、B 类(VIM、IMP、SPM、GIM、NDM-1)、C 类(DHA、FOX、MOX)和 D 类(OXA)多种 β-内酰胺酶基因和金属酶基因,水解 β-内酰胺类和碳青霉烯类抗菌药物,从而呈现多药耐药性;PAE 对氨基糖苷类抗菌药物耐药与获得氨基糖苷类修饰酶基因 aac(3)-I、aac(3)-III、aac(6′)-I b-Cr 有关;喹诺酮耐药基因 qnrB2 和 qnrB4 与 PAE 对喹诺酮类抗菌药物耐药有(下转第 2512 页)

mL 浓度,处理 48 h 后 1.2、1.6、2.0 mg/mL 浓度,与对照组细胞的 A 值比较差异有统计学意义($P<0.05$)。提示苦参碱能抑制人成纤维样滑膜细胞的增殖。

滑膜增生是 RA 的特征性病理表现,增生的滑膜可形成血管翳依附于软骨表面,介导骨和软骨的破坏,人成纤维样滑膜细胞凋亡不足与滑膜增生有关^[8]。介导人成纤维样滑膜细胞凋亡可能是治疗 RA 的有效途径。有研究显示,苦参碱能诱导宫颈癌 Hela 细胞凋亡,其作用机制可能与抑制 survivin 基因的表达有关^[9]。李海军等^[10]发现苦参碱能通过上调 Fas 蛋白的表达促进乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡。而范悦等^[11]研究提示苦参碱能诱导肝癌 HepG2 发生自噬作用。自噬和凋亡均可导致细胞死亡、细胞数目减少,本研究通过光镜和 MTT 法检测苦参碱对人成纤维样滑膜细胞的生长具有抑制作用,但细胞数目的减少是自噬还是凋亡导致的结果有待进一步探讨。总之,苦参碱可影响人成纤维样滑膜细胞的生长,可作为治疗 RA 的潜在药物。

参考文献

[1] 田东林,潘磊,高国卫,等. 类风湿关节炎治疗研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2013,15(11):137-139.

[2] 王燎原,戴生明. 滑膜成纤维细胞在类风湿关节炎中的作用[J]. 中华风湿病学杂志,2009,13(6):412-414.

[3] 蒋红,刘青松,凡瞿明,等. 丹参体外抑制类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞增殖的研究[J]. 中华临床医师杂志,

2010,4(4):425-429.

[4] 陈晓峡,向小庆,叶红. 苦参碱及氧化苦参碱抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(11):361-364.

[5] 雷佳红,蒋红,刘素兰,等. 苦参碱对 EC109 肿瘤细胞增殖的影响[J]. 检验医学与临床,2012,9(2):129-130.

[6] Song S, Zhu S, Zhang Z, et al. A study on the inhibitory effect of matrine on gastric cancer SGC-7901 cells[J]. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2013, 10(6):435-438.

[7] 金光虎,夏海波,李海峰,等. 苦参碱对前列腺癌 PC-3M 细胞生长抑制和凋亡的影响[J]. 内蒙古医学杂志,2013,45(1):1-5.

[8] 冯小辉,欧阳桂林. 类风湿关节炎滑膜细胞凋亡机制的研究进展[J]. 医学综述,2013,19(9):1543-1545.

[9] 陈立波. 苦参碱对宫颈癌 Hela 细胞增殖、凋亡及 Survivin 基因表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(15):235-238.

[10] 李海军,王俊明,田亚汀,等. 苦参碱对 MCF-7 细胞 Fas、VEGF 及端粒酶活性的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(9):1247-1251.

[11] 范悦,王世明,石青青. 苦参碱对肝癌细胞增殖及其细胞自噬的影响[J]. 中国当代医药,2013,20(7):11-13.

(收稿日期:2013-12-12 修回日期:2014-05-13)

(上接第 2509 页)

关^[3-4]。(2)主动外排机制:PAE 获得染色体介导的 qacEΔ1-sulI 抗菌药物外排泵基因,从而产生针对抗菌药物的主动外排作用^[5]。(3)形成生物被膜:群体感应系统、表面黏附蛋白、二价阳离子、菌毛合成系统、温度等环境因素等均参与 PAE 生物被膜的形成,但相关分子机制仍不十分明确^[6-7]。本研究结果显示,2011 年部分药物耐药率高于 2012 年,与文献报道的耐药率逐年升高有所不同^[8]。其中,哌拉西林/他唑巴坦、妥布霉素耐药率下降明显($P<0.05$),可能与临床用药逐渐趋于规范化有关。

在临床工作中,合理选择抗菌药物、加强抗菌药物质量监督、严格执行消毒隔离制度、保护性使用抗菌药物是防止耐药菌传播的关键。

参考文献

[1] 孙珊,张莉萍. 233 株铜绿假单胞菌在临床细菌感染中的分布及敏感性分析[J]. 重庆医学,2012,41(8):790-791.

[2] 俞建,王飞,严伟. 我院 2009 年铜绿假单胞菌感染分布与耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(10):2514-2515.

[3] Fallah F, Borhan RS, Hashemi A. Detection of bla(IMP) and bla(VIM) metallo-β-lactamases genes among Pseudomonas aeruginosa strains[J]. Int J Burns Trauma, 2013, 3

(2):122-124.

[4] 陈华彬,王冬国,王红戟,等. 多药耐药铜绿假单胞菌耐药基因的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(3):488-491.

[5] EL Almin N, Giske CG, Jalal S, et al. Carbapenem resistance mechanisms in Pseudomonas aeruginosa: alterations of porin OprD and efflux proteins do not fully explain resistance patterns observed in clinical isolates[J]. APMIS, 2005, 113(3):187-196.

[6] Zhang L, Fritsch M, Hammond L, et al. Identification of genes involved in Pseudomonas aeruginosa biofilm-specific resistance to antibiotics[J/OL]. PLoS One, 2013-04-24 [2014-03-24], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23637868>.

[7] 陈列彬,郭雪君,陈峰. 医院获得性肺炎铜绿假单胞菌生物被膜形成能力与基因型分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(24):5431-5433.

[8] 翟如波,张昊,邱方斌. 2008~2010 年某院院内感染铜绿假单胞菌临床分布及耐药性变迁分析[J]. 中华实验和临床感染病杂志,2012,6(3):65-69.

(收稿日期:2014-02-16 修回日期:2014-04-17)